



RAPPORT LNR 4694-2002

Avgiftning av jern ved dosering av flytende silikat - en pilotstudie



Hovedkontor

Postboks 173, Kjelsås
0411 Oslo
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 22 18 52 00
Internet: www.niva.no

Sørlandsavdelingen

Televeien 3
4879 Grimstad
Telefon (47) 37 29 50 55
Telefax (47) 37 04 45 13

Østlandsavdelingen

Sandvikaveien 41
2312 Ottestad
Telefon (47) 62 57 64 00
Telefax (47) 62 57 66 53

Vestlandsavdelingen

Nordnesboder 5
5005 Bergen
Telefon (47) 55 30 22 50
Telefax (47) 55 30 22 51

Akvaplan-niva

9296 Tromsø
Telefon (47) 77 75 03 00
Telefax (47) 77 75 03 01

| | | | |
|--|----------------------------------|-----------------------|---------------|
| Tittel Avgiftning av jern ved dosering av flytende silikat - en pilotstudie | Løpenr. (for bestilling) 4694 | Dato 19. juni 2003 | |
| | Prosjektnr. Undernr. O 23512 | Sider 15 | Pris 200,- |
| Forfatter(e) Åtland, Åse Kroglund, Frode Røyset, Oddvar | Fagområde Akvakultur | Distribusjon | |
| | Geografisk område | Trykket NIVA | |

| | |
|---|-------------------|
| Oppdragsgiver(e) Norsk avlsstasjon for fjellaure/Ål videregående skole Flatanger settefisk Fjord Seafood Norway AS avd. Settefisk Salsbruket | Oppdragsreferanse |
|---|-------------------|

Sammendrag

Det har lenge vært kjent at jern løst i vann er giftig for fisk ved at jernet akkumuleres på gjellene og forårsaker respirasjonssvikt (okerkvelning). De senere årene er det flere ganger rapportert til dels omfattende tap av fisk. På oppdrag fra et kultiveringsanlegg og to smoltanlegg er det gjennomført et pilotforsøk for å undersøke om dosering av silikatlut er et egnet tiltak for å avgifte jern. Forsøkene ble gjennomført ved NINAs forskningsstasjon for ferskvannsfisk på Ims ved Sandnes. Aure av Tunhovdstammen ble eksponert for vann tilsatt ca. 1 mg jern. Jern ble tilsatt som både to- og treverdige i 1:1 forhold (henholdsvis FeSO_4 og FeCl_3). Fisk ble eksponert i tre ulike vannkvaliteter: driftsvann tilsatt jern, driftsvann tilsatt jern og 3 mg silikat (SiO_2), driftsvann tilsatt jern og 6 mg silikat. Det er velkjent at giftigheten til jern endres med økende alder på vannet. I forsøket ble fisk eksponert i vann med oppholdstid 10, 20 og 30 minutter. Resultatene viste at silikatdoseringen avgiftet jernet raskt. I samtlige kar tilsatt silikat hadde fisken jernkonsentrasjoner på gjellene ned mot det nivået en fant hos referanseciklen (ca 100 µg Fe per g gjelle tørrvekt). I karrekken med kun jerntilsetning avtok gjellekonsentrasjonene av jern fra 600 til ca. 200 med økende oppholdstid fra 10 til 30 minutter. I karrene med silikatdosering var det ingen effekt av oppholdstid, dvs. avgiftningen hadde skjedd innen 10 minutter. Resultatene er svært lovende med tanke på bruk av flytende silikatlut som metode for avgiftning av jern. Det må utvikles metoder som lar oppdretterne identifisere perioder hvor silikatbehandling av vannet bidrar til å sikre fiskehelse.

| | |
|---------------------|------------------------|
| Fire norske emneord | Fire engelske emneord |
| 1. Laks | 1. Atlantic salmon |
| 2. Aure | 2. Brown trout |
| 3. Jerntoksisitet | 3. Iron toxicity |
| 4. Silikat | 4. Waterglass/silicate |

Avgiftning av jern ved dosering av flytende silikat - en pilotstudie

Forord

Norsk avlsstasjon for fjellaure, Hovet i Hallingdal, tok i mars i år kontakt med NIVA på grunn av problemer med jerntoksisitet ved anlegget. Vi vurderte ulike muligheter for avgiftning av jern, og foreslo å gjennomføre en pilotstudie for å teste dosering av silikatlut. Studien er i hovedsak finansiert av dette anlegget, men Flatanger settefisk og Fjord Seafood Norway AS avd. Settefisk Salsbruket har også bidratt. Forsøkene ble gjennomført ved NINAs forskningsstasjon for ferskvannsfisk på Ims. John G. Backer og det øvrige personalet på Ims takkes for all velvilje og hyggelig samarbeid.

Bergen, 19. juni 2003

Åse Åtland

Innhold

| | |
|------------------------------------|-----------|
| 1. Bakgrunn | 5 |
| 2. Materiale og metoder | 6 |
| 2.1 Forsøksoppsett | 6 |
| 2.2 Fiskemateriale og prøvetaking | 8 |
| 2.3 Vannkjemi | 8 |
| 3. Resultater og diskusjon | 9 |
| 3.1 Vannkjemi | 9 |
| 3.2 Fiskerespons | 11 |
| 3.3 Konklusjon | 13 |
| 4. Litteraturreferanser | 13 |
| 5. Vedlegg 1 – rådata kjemi | 15 |

1. Bakgrunn

All fisk stiller krav til vannkvalitet (se bl.a. Rosseland 1999). Flere metaller, deriblant jern og aluminium, skader fisken ved at metallet akkumuleres i og på gjellevevet, og vil ved høye konsentrasjoner medføre svikt i oksygenopptaket og problemer med fiskens ioneregulering. Ved lavere konsentrasjoner kan fisken fortsatt være påvirket i en negativ retning uten at dette resulterer i dødelighet. Responsen kan da måles som redusert vekst og økt følsomhet for andre miljøvariabler, deriblant sykdom og parasitter.

Høye kan foreligge på ulike tilstandsformer i vann. Jern kan forekomme i ulike tilstandsformer. Når to-verdig jern (Fe II) kommer i kontakt med luft oksideres det til tre-verdig jern (Fe III). Med mindre det tre-verdige jernet blir kompleksbundet, vil felles det ut som jernhydroksyd (Fe (OH)₃). I denne fasen med kjemisk ustabilitet vil jernet kunne felles ut på fiskens gjeller, såkalt "okerkvelning".

Flere faktorer påvirker hvor hurtig jernet oksideres, bl.a. pH, temperatur og ionestyrke (Davison 1993). I settefiskanlegg med høye konsentrasjoner av to-verdig jern, spesielt fra grunnvann med minimal oksygentilgang, vil lufting/oksygenering kunne starte oksideringen og utfelling av jernoksyd vil kunne skje direkte i fiskekarene. Ved lave temperaturer forsinkes oksidasjonen av to-verdig jern, og kombinert med lav pH vil dette kunne gi betydelige konsentrasjoner av Fe(II) i vannet. Også to-verdig jern er toksisk for fisk bl.a. ved at det hemmer fisken kalsiumopptaket, og vil også medføre lipidperoksidering ("harskning" av fett og skade på biologiske membraner) og dannelselse av frie radikaler i fisken (Bacon et al. 1986, Ghosh et al. 1993). Jern og aluminium er også rapportert å kunne forsterke de toksiske effektene av hverandre (Vuorinen et al. 1998). En viktig faktor for å bestemme giftigheten av jern er hvor stor andel av jernet som er organisk bundet. Flere forsøk har vist redusert giftighet av jern når humusinnholdet er høyt (Peuranen et al. 1994). På bakgrunn av Vannkvalitets- (VK)-undersøkelsene i norske settefiskanlegg i perioden 1999-2002 har en sett at problemer kan oppstå når forholdet mellom total jernkonsentrasjon og totalt organisk karbon (Fe/TOC) blir større enn 40 (Rosseland et al. 2002). Under ugunstige forhold ser det ut for at en kan få skader på fisken når jernkonsentrasjonen i vannet overstiger 50 µg L⁻¹.

Det har lenge vært kjent at et mulig tiltak mot giftighet av jern kan være lang oppholdstid på vannet. Dette bidrar til å sikre at jernet blir fullstendig oksidert fra Fe (II) til Fe(III) og felles ut. Dette er vanskelig å oppnå på mange anlegg, ettersom det er svært kostbart å bygge store tanker for å øke oppholdstiden på vannet. Filtrering er heller ikke hensiktsmessig med så store vannmengder gjennom fine filtre. Vi har derfor, i samarbeid med Anders Haavik ved BIM Krystal, diskutert mulighetene for å kompleksbinde jernet med silikat, og dermed gjøre det mindre biotilgjengelig for fisken. Vi har lang erfaring med bruk av silikat for å avgifte aluminium, og resultatene fra disse forsøkene har vært svært gode: avgiftningen skjer hurtig, og effektene på fisken er bedre enn med bruk av både kalk og lut (Åtland et al. 1997a, Åtland et al. 1997b, Åtland et al. 1998, Åtland et al. 2003).

På denne bakgrunn ble det på oppdrag fra et kultiveringsanlegg og to smoltanlegg satt i gang en pilotstudie for å undersøke om silikatdosering kunne være en egnet metode for avgiftning av jern.

2. Materiale og metoder

Forsøket ble gjennomført i perioden 12.-16. april 2003 ved Forskningsstasjonen for ferskvannsfisk, Ims utenfor Sandnes. Stasjonen eies og drives av Norsk institutt for naturforskning (NINA).

2.1 Forsøksoppsett

For å teste effektene av silikatdosering, ble det lagt opp til eksponering av fisk i tre ulike vannkvaliteter i tillegg til driftsvannet ved stasjonen som ble brukt som referanse:

Fe: Kun jerntilsetning.

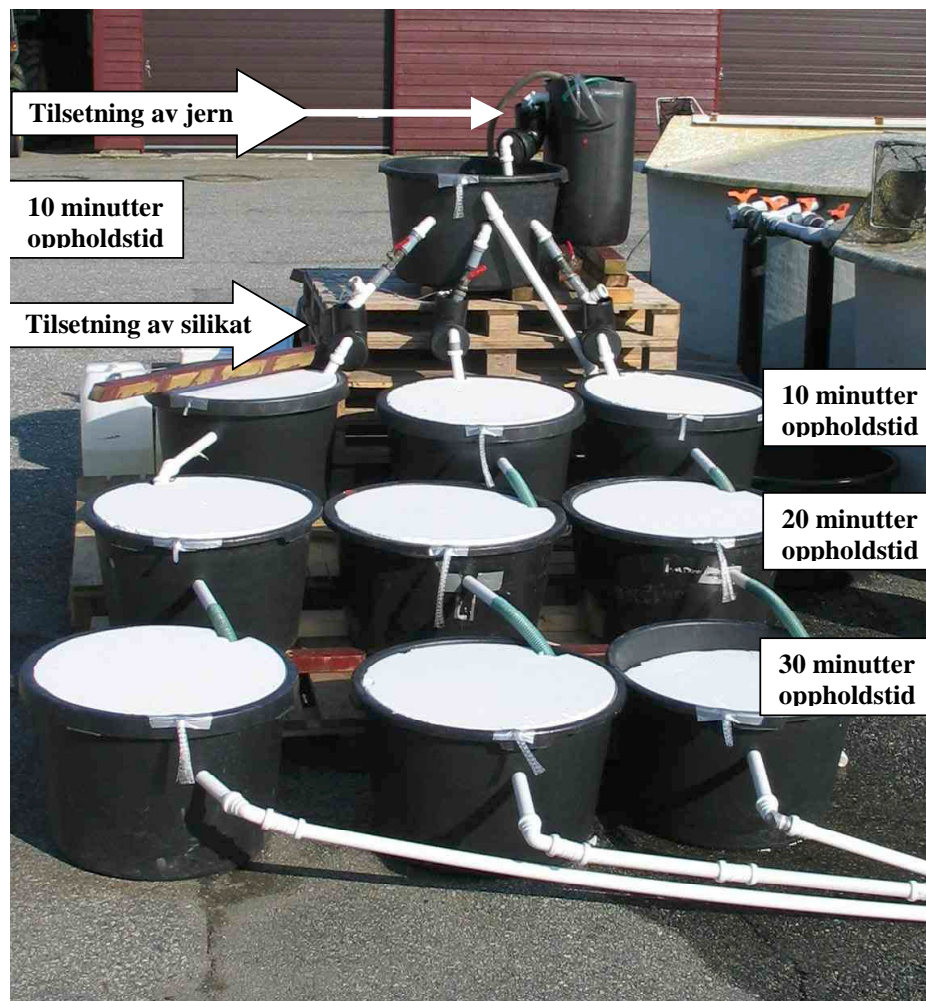
SiL: Jerntilsetning samt 3 mg SiO₂ tilsatt pr. liter.

SiH: Jerntilsetning samt 6 mg SiO₂ tilsatt pr. liter.

For hver av disse vannkvalitetene ble det satt opp en karrekke med tre seriekoblede kar (Figur 1). Dette ble gjort for å undersøke effekten av oppholdstid etter dosering av silikat og jern (10, 20 og 30 minutters oppholdstid ble testet). Fisken ble eksponert i 90 liters svarte stamper med kontinuerlig vanngjennomstrømning (**Figur 1**). Vanngjennomstrømningen i fiskekarene var 7 L min⁻¹, og med en fylling på 70 L pr. kar gav dette en oppholdstid på 10 minutter pr. kar. Vanntemperaturen varierte fra 5,8 °C til 7,0°C i forsøksperioden med de laveste temperaturene på nattetid. Det var ingen forskjeller i temperatur mellom karrekkene.

I forbindelse med andre forsøk er det tatt jevnlig prøver av vannkvaliteten ved anlegget, og disse resultatene fra perioden 20 mars til 6 mai 2003 er gjengitt i **Tabell 1**. Prøvene som ble tatt innefor eksponeringsperioden i april avvek med mindre enn 5 % fra gjennomsnittsverdiene oppgitt i tabellen. Vannkvaliteten ved stasjonen er god, med høy pH lave konsentrasjoner av jern og aluminium.

Oksygenmetningen i karene ble undersøkt ved avslutningen av forsøket. Oksygenkonsentrasjonen varierte mellom 12,5 og 12,7 mg L⁻¹ (Se **Tabell 6** i vedlegget). Biomassen av fisk i karene var ikke så høy at den påvirket oksygennivået i karene i nevneverdig grad.



Figur 1. Foto som illustrerer forsøksoppsettet. Det øverste høye, firkantete karet er et overløpskar. Dette ble brukt for å sikre jevn vanntilførsel før jerntilsetning. Jern ble dosert inn i vannstrømmen umiddelbart før det første runde karet. Silikat ble dosert på innløpet til de to karrekken lengst til venstre (henholdsvis SiL og SiH), mens karrekken lengst til høyre ikke ble tilsatt silikat (Fe A, B og C).

Tabell 1. Vannkjemisk sammensetning av råvannet ved Ims i perioden 20. mars til 6. mai 2003. Gjennomsnittsverdier og standard avvik er angitt.

| Parameter | Snitt | SD | Parameter | X | SD |
|--|-------|------|--------------------------------|------|------|
| pH | 7,06 | 0,09 | Fe ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 11,1 | 1,95 |
| Kond (mS m^{-1}) | 7,01 | 0,05 | Al/a ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 19 | 4,83 |
| Alk (mmol L^{-1}) | 0,18 | 0,01 | Alc ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 5,83 | 3,74 |
| Ca (mg L^{-1}) | 4,48 | 0,05 | Al/r ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 14,8 | 4,1 |
| Mg (mg L^{-1}) | 1,47 | 0,02 | Al/il ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 10,1 | 5,25 |
| Na (mg L^{-1}) | 6,47 | 0,05 | LAL ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 4,33 | 2,47 |
| K (mg L^{-1}) | 1,33 | 0,02 | Turb (FNU) | 0,61 | 0,23 |
| Cl (mg L^{-1}) | 10,7 | 0,3 | TOC (mg L^{-1}) | 2,59 | 0,13 |
| SO ₄ (mg L^{-1}) | 3,54 | 0,08 | | | |
| NO ₃ ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 597 | 53,2 | | | |
| Tot N ($\mu\text{g L}^{-1}$) | 847 | 53,9 | | | |

2.2 Fiskemateriale og prøvetaking

Fisken som ble brukt i forsøket var aure av Tunhovd-stammen, med gjennomsnittsvekt på 36 g (Tabell 2). Det ble satt ut 12 fisk pr. kar, og fisken ble eksponert i 5 dager fra 12.-16. april 2003.

Tabell 2. Gjennomsnittlig lengde, vekt og kondisjonsfaktor på fisken som ble brukt i forsøket.

| | Lengde (cm) | Vekt | K-faktor |
|----------------|-------------|------|----------|
| snitt | 15,3 | 36,0 | 0,98 |
| standard avvik | 1,7 | 12,4 | 0,09 |
| N | 63 | 63 | 63 |

Prøvetakingen omfattet blod og gjeller. Blodprøvene ble analysert direkte ved hjelp av I-stat analyseapparat.

For kvantitativ bestemmelse av jern på og i gjellene ble andre gjellebue på fiskens høyre side prøvetatt og lagt på forhåndsveide, syrevaskede telleglass. Prøvene ble analysert ved Institutt for jord- og vannfag ved Norges landbrukshøgskole (NLH). Etter ankomst til laboratoriet ble gjellene frysetørket, veid, og deretter oppløst i 10% HNO₃. Jerninnholdet ble målt på ICP, og er angitt som mengde jern (µg) pr gram gjelle i tørrvekt.

2.3 Vannkjemi

For å ha kontroll med jern dosene ble det tilsatt to- og treverdig jern i forholdet 1:1 i henhold til protokoll fra Peuranen m.fl. (1994). Jernet ble tilsatt som henholdsvis FeSO₄ og FeCl₃. pH i driftsvannet var relativt høy, og ble derfor justert ned om lag en pH-enhet med saltsyre (HCl). Saltsyre ble blandet inn i stamløsningen av jern slik at denne hadde en pH på ca 1,2. Dette ble gjort av tre årsaker:

- for å stabilisere stamløsningen av jern og hindre oksidasjon av det to-verdige jernet
- for å få en pH som var relevant i forhold til råvannskvaliteten på anleggene som finansierte studien
- for å unngå for høy pH (> 7,0) etter tilsetning av silikat

Flytende silikatlut ble dosert inn på innløpet til det øverste fiskekaret i karrekke Si-L (3 mg L⁻¹) og karrekke SiH (6 mg L⁻¹). Silikatluten som ble brukt var Krystasil 40 fra BIM Krystal. Denne har en tørrstoffvekt på 36,0 %, og inneholder 27,6% SiO₂.

For å dokumentere de vannkemiske forholdene ble jerninnholdet i vannet karakterisert ved avslutningen av forsøket. SCF (Size Charge Fractionation)-teknologi tillater fraksjonering basert på ladning og størrelse (0,45 µm) på jernforbindelsene. Fraksjonering av metaller med bruk av SCF-metoden er en rask og enkel måte å fraksjonere ulike metallfraksjoner i vannprøver på. Separasjonen utføres på stedet med kommersielt tilgjengelig utstyr. Prøvetakingen er basert på Driscolls vel etablerte metode (Driscoll 1984), og er beskrevet i Tangen et al. (2002).

SCF-prøvetaking deler vannet inn i tre prøver som analyseres med egnet analyseteknikk:

- En totalprøve (T) som er en vanlig vannprøve konservert med syre.
- En filtrert prøve (F) som passerer et filter med porestørrelse 0,45 µm.
- En filtrert og ionebyttet prøve (FIB) som passerer et filter med porestørrelse 0,45 µm og en kolonne med Chelex-100 kuler.

Fraksjonen som stoppes av filteret (T-F) betegnes som partikulær fraksjon. Fraksjonen som går gjennom både filter og ionebytterkolonne (FIB) betegnes som inert og består av kolloidale/organisk bundne eller anioniske spesier, mens fraksjonen som blir sittende igjen på ionebytteren (F-FIB) betegnes som labil.

DGT (Diffusion Gradients in Thin films) er en metode for prøvetakning av metaller i vann. Metoden er basert på passiv prøvetakning som integrerer metallkonsentrasjoner (f.eks. Al) i vannet over tid. Prøvetakeren kan stå i vannet i perioder fra timer til uker/måneder, og gi et bilde på den totale Al-belastningen over en gitt tid. Dette gir verdifull tilleggsinformasjon til vannprøver tatt ved bestemte tidspunkt, og et bedre bilde av den totale belastningen organismene i systemet utsettes for.

I dette forsøket var DGT-er plassert ved utløpet av hvert av fiskekarene. DGT vil dermed integrere den totale metalleksposeringen fisken blir utsatt for gjennom forsøksperioden.

Ettersom disse to metodene har ulike egenskaper vil ikke tallverdiene alltid stemme overens.

3. Resultater og diskusjon

3.1 Vannkjemi

Driftsvannet på Ims hadde en gjennomsnittlig pH på 7,15, innholdet av totalt organisk karbon (TOC) var $2,7 \text{ mg L}^{-1}$, og fargetallet var $12,4 \text{ mg Pt L}^{-1}$. Som nevnt under metodekapitlet ble pH justert ned fra 7,15 i driftsvannet til et gjennomsnitt på 6,26 (**Tabell 3**). Som en ser av standardavvikene var pH stabil gjennom forsøksperioden. Planen var å dosere totalt $1,0 \text{ mg jern pr. liter}$. Som vist i **Tabell 3** var totalkonsentrasjonen av jern etter dosering omkring $800 \mu\text{g L}^{-1}$. Dette kan skyldes at en viss underdosering, men noe utfelling av jern i blandekaret har trolig også vært en medvirkende faktor ettersom det ved avslutningen av forsøket ble observert et rustbrunt belegg i røret hvor jernløsningen ble inndosert. Når det gjelder silikatdoseringen, viser resultatene at vi traff den planlagte doseringen på henholdsvis 3 og $6 \text{ mg SiO}_2 \text{ L}^{-1}$ (**Tabell 3**). Bakgrunnsnivået av silikat på Ims var på $1 \text{ mg SiO}_2 \text{ L}^{-1}$.

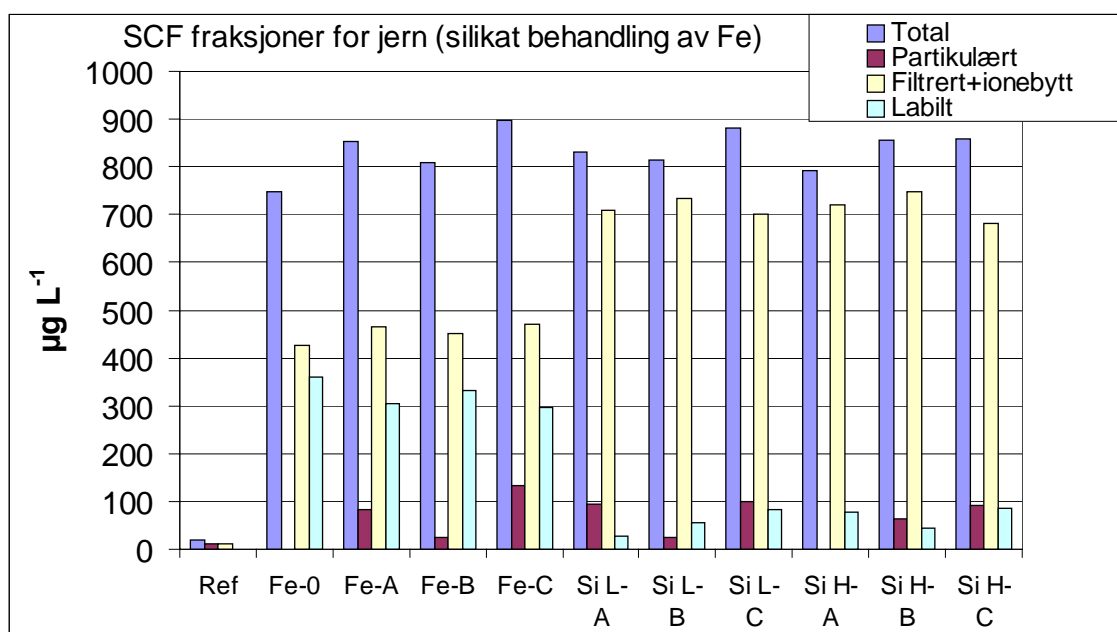
SCF-prøvetakingen viste en tydelig reduksjon i konsentrasjonen av labilt jern etter dosering av silikat (**Figur 2**). Dette er helt i samsvar med det en har sett av endringer i tilstandsform på aluminium etter silikatdosering – i løpet av kort tid reduseres den labile fraksjonen kraftig (se bl.a. Åtland et al. 1997b, 1998 og 2003). Fraksjonen av partikulært Fe øker ikke noe særlig (ligger under ca $50 \text{ Fe } \mu\text{g L}^{-1}$). Det betyr at det ikke skjer en felling av jernhydroksid ($\text{Fe}(\text{OH})_3$) i løpet av 30 min oppholdstid. Den andelen som passerer kationbytter (FIB) går opp fra ca 300 til 700. Det betyr andelen av nøytrale/anioniske Fe forbindelser øker med tilsetning av silikat. Vi vet lite detaljert om de kjemiske reaksjonene som skjer mellom jern og silikat. Det er mulig at det dannes nøytrale eller svakt anioniske komplekser.

Når det gjelder tilstandsformer av silikat, var den ikke-labile fraksjonen totalt dominerende, dvs. den fraksjonen som passerte både filteret ($0,45 \mu\text{m}$) og ionebytteren. SCF-prøvetakingen avslørte ingen endringer i tilstandsform på jern med økende oppholdstid i karene med kun jerntilsetning (Fe A-C) (**Figur 2**). Det betyr ikke at det ikke har vært noen endringer med økende oppholdstid, og dette er nærmere diskutert i forbindelse med gjelleresultatene.

Resultatene av DGT-prøvetakingen av jern er presentert i **Tabell 4** sammen med den labile fraksjonen basert på SCF-teknikken. DGT-prøvetakerne viste godt samsvar med vannprøvene når det gjelder karene med kun jerntilsetning (FeA-FeC). Vi får imidlertid betydelig høyere DGT labil konsentrasjon i nærvær av Si (DGT labilt er 150 - 200) mens SPE labilt er under $50 \mu\text{g/l}$. Dette tyder på at de Fe-Si forbindelsene som dannes er relativt ustabile og små, siden de fanges opp av DGT-en.

Tabell 3. Totalkonsentrasjoner av jern og silisium samt gjennomsnittlig pH (standard avvik i parentes) i de ulike karene i løpet av forsøksperioden.

| | pH snitt | Total Fe $\mu\text{g L}^{-1}$ | Total SiO ₂ mg L^{-1} |
|------------|-------------|----------------------------------|--|
| Driftsvann | 7,15 (0,03) | 20 | 1,0 |
| Bland | 6,26 (0,11) | 749 | 1,1 |
| Fe A | 6,31 (0,11) | 854 | 1,1 |
| Fe B | 6,29 (0,14) | 809 | 1,1 |
| Fe C | 6,33 (0,12) | 898 | 1,0 |
| Si-L A | 6,59 (0,12) | 830 | 3,9 |
| Si-L B | 6,58 (0,14) | 814 | 4,0 |
| Si-L C | 6,57 (0,12) | 882 | 4,0 |
| SiH-A | 6,96 (0,31) | 791 | 6,9 |
| SiH-B | 6,87 (0,22) | 856 | 6,9 |
| SiH-C | 6,89 (0,17) | 859 | 6,9 |

**Figur 2.** Konsentrasjonen av de ulike jernfraksjonene basert på SCF-prøvetaking.**Tabell 4.** Den labile fraksjonen av jern i de ulike karene basert på SCF og DGT teknikkene.

| | SCF labil Fe $\mu\text{g L}^{-1}$ | DGT-Fe $\mu\text{g L}^{-1}$ |
|------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| Driftsvann | 0 | 17 |
| Bland | 360 | |
| Fe A | 306 | 360 |
| Fe B | 333 | 290 |
| Fe C | 296 | 270 |
| Si-L A | 27 | 210 |
| Si-L B | 55 | 180 |
| Si-L C | 82 | 190 |
| SiH-A | 77 | 170 |
| SiH-B | 44 | 150 |
| SiH-C | 87 | 140 |

3.2 Fiskerespons

Det var ingen dødelighet i løpet av den tiden fiskeforsøket varte. Resultatene av de fysiologiske målingene er gjengitt i **Tabell 5**. Det var ingen dramatiske forskjeller mellom gruppene i forsøket, men det var en generell tendens til at fisken som gikk i vann med den laveste silikatdosen hadde blodverdier som lå nærmest referansegruppen. Det er også et gjennomgående mønster at fisken i denne gruppen hadde de laveste standardavvikene. Dette kan tyde på at enkeltfisk har problemer med å opprettholde en normalfysiologi. Dette vil gi større variasjon i de målte verdiene, og medfører økt spredning av tallverdiene omkring gjennomsnittet. Dette er et tegn på stress vi ofte ser tidlig i forsøk før tydelige forskjeller mellom gruppene manifesterer seg (se Muniz m.fl. 1978).

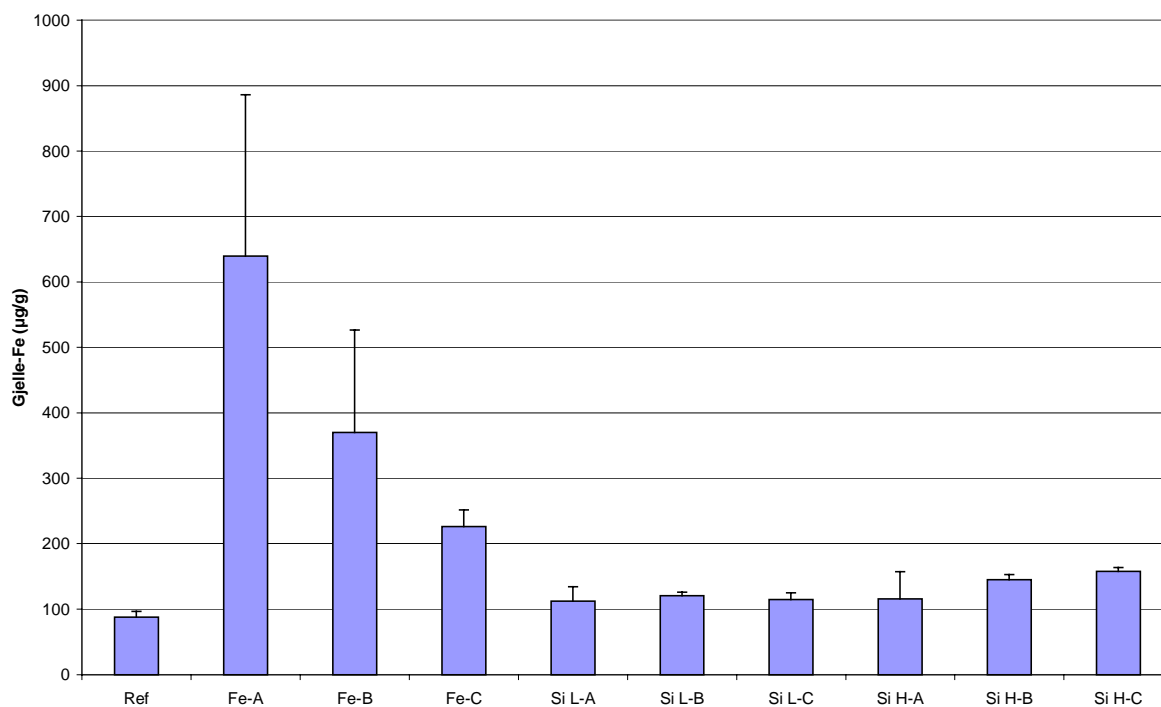
Tabell 5. Resultatene av blodanalyser med I-stat på prøver tatt ved avslutningen av forsøket. Verdiene er gjennomsnittsverdier for 6 fisk i hver gruppe. Verdiene er oppgitt som mmol L⁻¹ for klorid, natrium, kalium og glukose. Saltene er angitt som mM, hematokritt som %, glukose som mg/dl, pCO₂ som mg Hg og HCO₃ som mM.

| | Ref | Fe-A | Fe-B | Fe-C | Si L-A | Si L-B | Si L-C | Si H-A | Si H-B | Si H-C |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Plasma-Cl | 139,4 | 124,3 | 128,0 | 127,0 | 127,3 | 134,0 | 122,4 | 119,7 | 122,2 | 127,3 |
| sd | 2,4 | 9,2 | 11,6 | 7,8 | 4,1 | 4,5 | 4,7 | 6,3 | 6,5 | 6,5 |
| Plasma-Na | 158,8 | 136,8 | 123,8 | 139,2 | 142,3 | 137,2 | 132,8 | 132,8 | 135,7 | 142,7 |
| sd | 2,5 | 14,2 | 13,2 | 11,6 | 5,2 | 7,6 | 6,6 | 4,5 | 4,6 | 10,6 |
| Plasma-K | 3,9 | 3,9 | 3,1 | 3,7 | 3,0 | 3,4 | 3,4 | 3,2 | 3,5 | 3,4 |
| sd | 0,6 | 1,1 | 0,8 | 1,0 | 0,5 | 0,5 | 0,6 | 0,7 | 0,4 | 0,5 |
| Glukose | 109,5 | 267,5 | 287,8 | 277,3 | 173,5 | 173,8 | 305,0 | 328,2 | 328,3 | 214,2 |
| sd | 16,8 | 150,3 | 156,2 | 182,6 | 63,0 | 64,3 | 107,6 | 128,3 | 116,6 | 152,1 |
| pCO₂ | 25,4 | 19,5 | 21,8 | 20,4 | 15,9 | 18,6 | 19,4 | 17,3 | 15,6 | 18,2 |
| sd | 1,2 | 1,6 | 4,4 | 4,1 | 0,8 | 3,8 | 2,3 | 3,8 | 0,3 | 1,1 |
| HCO₃ | 4,7 | 3,3 | 4,8 | 4,0 | 4,0 | 3,5 | 3,7 | 4,0 | 3,0 | 3,0 |
| sd | 1,2 | 0,6 | 1,5 | 1,0 | 1,0 | 0,6 | 0,6 | 0,0 | 1,0 | 0,0 |
| HC | 27,1 | 30,8 | 27,8 | 33,7 | 29,3 | 28,5 | 30,2 | 36,2 | 30,3 | 30,2 |
| sd | 4,0 | 2,9 | 1,9 | 3,5 | 3,4 | 4,4 | 3,4 | 15,2 | 2,9 | 1,9 |

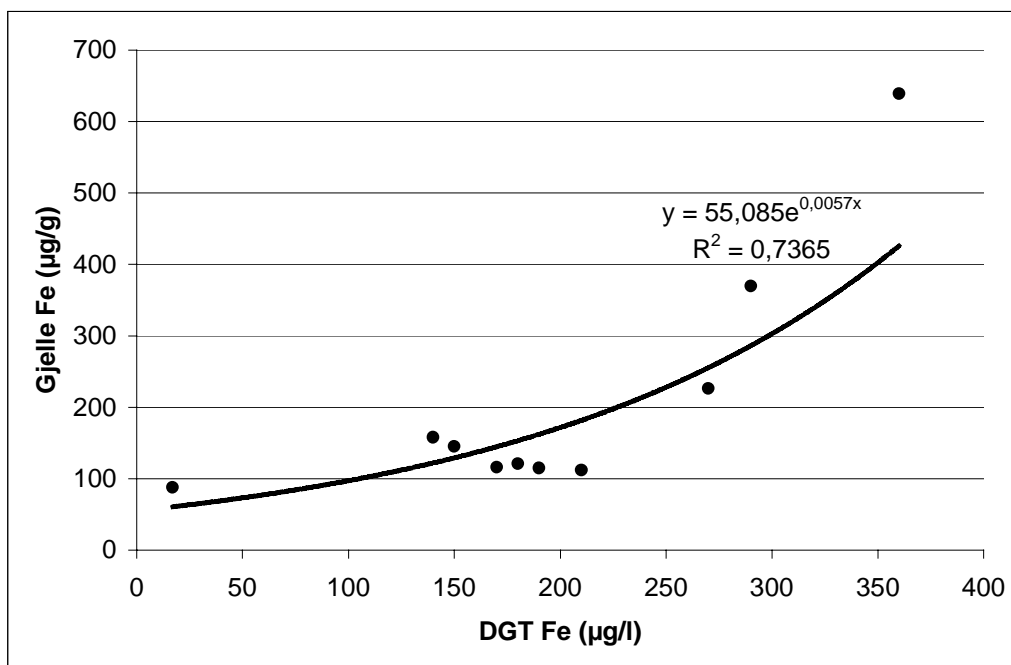
* verdiene er oppgitt ved 37 °C og er ikke sammenlignbare med tradisjonelle analyser.

Jernkonsentrasjon påvist i gjelle-analysene kan både stamme fra blod (i hemoglobin; oksygenopptak) som følger med gjelleprøvene og fra jern som akkumuleres på gjellene fra jernkilder i vannet. Vi antar at mengden blod i en gjelleprøve kan variere (kan øke med økende blodprosent; blodets viskositet) og kan således gi en "falsk" økninger i gjelle-jern. Jerninnholdet i blod (basert på 4 referansefisk) var 1390±198 µg Fe per gram gjelle tørrvekt. Fisken hadde i underkant av 100 µg per gram gjelle tørrvekt som bakgrunnsverdi (**Figur 3**). Dette er lave verdier og antyder at fisken ikke var påført noen forutgående belastning med Fe. Dette nivået antyder samtidig at jern i blodet ikke kan representere en vesentlig feilkilde. I kar tilsatt kun jern ble det målt verdier fra 600 til 200 µg jern på gjellene. De laveste verdiene ble målt i kar med lengst oppholdstid. I kar tilsatt silikat var verdiene av gjellejern på samme nivå som fisk i referansekar uten jerntilsetning (ca 100 µg g⁻¹). Endringene i jernkonsentrasjon innen karrekken kun tilsatt jern og fravær av akkumulering i karrekken som ble silikatbehandlet tolkes som at biotilgjengeligheten av jern har avtatt i disse karene. Dette samsvarer godt med reduksjonen av labilt jern som både SCF- og DGT-prøvetakingen viste for karene med silikattilsetning. Når det gjelder reduksjonen i gjellejern som følge av økt oppholdstid i karene uten silikat, har det vannkjemiske prøvetakingsprogrammet ikke klart å dokumentere noen endring kjemisk sett. Analyse av jern i gjeller kan være en mer følsom metode for å påvise forskjeller i vannkvalitet enn tradisjonelle og nyere vannkjemiske analyser. I **Figur 4** er sammenhengen mellom jern basert på DGT plottet mot konsentrasjonen av jern i fiskegjellene. De er en signifikant positiv korrelasjon mellom de to, men DGT skiller litt dårlig i konsentrasjonsområdet fra 100 til 200 µg L⁻¹.

I karene med silikatdosering var det ingen effekt av økende oppholdstid, dvs. avgiftningen av jern var allerede skjedd i løpet av den korteste oppholdstiden på 10 minutter.



Figur 3. Konsentrasjoner av gjellejern (μg per g gjelle tørrvekt). Ref. er fisk som har gått i driftsvannet på Ims, mens Fe er karene med tilsetning av kun jern, SiL er den laveste silikatdosen ($3 \text{ mg SiO}_2 \text{ L}^{-1}$) og SiH er den høyeste silikatdosen ($6 \text{ mg SiO}_2 \text{ L}^{-1}$). A, B, og C henviser til oppholdstider på henholdsvis 10, 20 og 30 minutter.



Figur 4. Sammenhengen mellom jernkonsentrasjon basert på DGT-prøvetaker ($\mu\text{g L}^{-1}$) og konsentrasjonen av jern på fiskegjellene ($\mu\text{g g}^{-1}$ gjelle tørrvekt).

3.3 Konklusjon

Ingen av de vannkjemiske målemetodene beskrev forskjellene i akkumulert jern på gjellene tilfredsstillende. Forsøket viste likevel tydelig at silikatdoseringen medførte sterkt redusert biotilgjengelighet av jern. I karene uten silikatdosering var det en tydelig reduksjon i gjelle-jern med økende oppholdstid, men etter 30 minutter oppholdstid var konsentrasjonene av gjellejern likevel om lag dobbelt så høye som ved silikatbehandling eller som bakgrunnsverdien. For en oppdretter vil det i praksis bety at en holdetank vil gi effekt etter 30 minutter (ved pH 6,3), men effekten er ikke så god som ved silikatdosering. Resultatene gir også indikasjoner på at 3 mg silikat gav en bedre effekt enn 6 mg silikat tilsatt.

Videre forskningsbehov er knyttet til følgende:

- teste kortere oppholdstider enn 10 minutter
- effekt av sjøvannstilsetning
- finne kjemiske metoder som kan fange opp endringer i tilstandsform av Fe med økende oppholdstid

4. Litteraturreferanser

Bacon, B.R., R. O'Neill, and C.H. Park. 1986. Iron-induced peroxidative injury to isolated rat hepatic mitochondria. *J. Free Radic. Biol. Med.* 2:339-347.

Driscoll, C.T. 1984. A procedure for the fractionation of aqueous aluminium in dilute acidic waters, *International Journal of Environmental analytical Chemistry*, 16, 267-283.

Ghosh, C., R.N. Dick, and S.F. Ali. 1993. Iron/ascorbate –induced lipid-peroxidation changes membrane fluidity and muscarinic cholinergic receptor binding in rat frontal cortex. *neurochem. Int.* 23:479-484.

Muniz, I. P. , Leivestad, H. og Rosseland, B. O. 1978. Stressmålinger på fisk i sure vassdrag. Presentasjon av metodikk og en del resultater. NORDFORSK, Miljøvårdsekretariatet publikasjon 2: 233 - 247.

Tangen, G., Wickstrom, T., Lierhagen, S., Vogt, R., Lund, W. 2002. Fractionation and determination of aluminum and iron in soil water samples using SPE cartridges and ICP-AES. *Environmental Science & Technology*, 36, 5421-5425.

Peuranen, S., P.J. Vuorinen, M. Vuorinen and A. Hollender. 1994. The effects of iron, humic acids and low pH on the gills and physiology of Brown trout (*Salmo trutta*). *Ann. Zool. Fennici* 31: 389-396.

Rosseland, B.O. 1999. Vannkvalitetens betydning for fiskehelsen. In: Poppe, T. (ed.) Fiskehelse og fisesykdommer pp. 240-252. Universitetsforlaget AS. ISBN 82-00-12718-4.

Rosseland, B.O., T. Rosten, B. Salbu, T. Kristensen, and L. Sørli. 2002. Vannkvalitetsundersøkelsen 1999-2001. Oppsummering. Rapport NIVA, KPMG, NLH (Sperret).

Vuorinen, P. J., M. Keinänen, S. Peuranen and C. Tigerstedt, C. 1998. Effects of iron, aluminium, dissolved humic material and acidity on grayling (*Thymallus thymallus*) in laboratory exposures, and a comparison of sensitivity with brown trout (*Salmo trutta*). Boreal Env. Res. 3: 405–419.

Åtland, Å., H. Hektoen, J. Håvardstun, E. Lydersen, og B.O. Rosseland, 1997a. Forsøk med dosering av silikat-lut ved Syrtveit Fiskeanlegg. NIVA rapport nr. 3625. 22 s.

Åtland, Å., V. Bjerknes, H. Hektoen, J. Håvardstun, B. Salbu, og H.C. Teien. 1997b. Feltforsøk med dosering av silikat-lut i Tangedalselva. NIVA rapport nr. 3714.

Åtland, Å., A. Kvellestad, E.A. Lindstrøm, H.B. Pedersen, G.G. Raddum, B. Salbu, og H.C. Teien. 1998. Bruk av silikat som alternativ til kalking - feltforsøk med flytende og fast silikat i 1997. NIVA-rapport nr. 3896.

Åtland, Å., B. Barlaup, K. Bang, V. Bjerknes, S.E. Gabrielsen, J. Haavardstun, E.A. Lindstrøm, G. Raddum, and H.C. Teien. 2003. Langtidseffekter av silikatdosering. Ett års utprøving av silikat i Tangedalselva, et sidevassdrag til Yndesdalsvassdraget i Hordaland. NIVA rapport 4656. 62 pp.

5. Vedlegg 1 – rådata kjemi

Tabell 6. Oksygeninnhold og oksygenmetning målt ved avslutningen av forsøket.

| | mg O ₂ L ⁻¹ | % metning |
|------------|-----------------------------------|-----------|
| Driftsvann | 12,7 | 109 |
| Bland-Fe | 12,8 | 108 |
| Fe-A | 12,9 | 106 |
| Fe-B | 12,8 | 105 |
| Fe-C | 12,5 | 104 |
| SiL-A | 12,8 | 105 |
| SiL-B | 12,7 | 105 |
| SiL-C | 12,5 | 103 |
| SiH-A | 12,8 | 105 |
| SiH-B | 12,7 | 104 |
| SiH-C | 12,6 | 104 |

Tabell 7. pH-målinger i løpet av forsøkperioden.

| | 12.4.03 8:30 | 12.4.03 10:00 | 12.4.03 18:40 | 13.4.03 9:30 | 13.4.03 10:35 | 13.4.03 18:00 | 14.4.03 8:45 | 14.4.03 13:00 | 16.4.03 8:30 | Snitt (+/-sd) |
|--------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
| Ref | 7,11 | 7,1 | 7,15 | 7,2 | 7,19 | 7,16 | 7,12 | 7,14 | 7,16 | 7,15 (0,03) |
| Bland | 6,4 | 6,1 | 6,12 | 6,34 | 6,26 | 6,18 | 6,26 | 6,29 | 6,41 | 6,26 (0,11) |
| Si-H A | 7,72 | 6,7 | 6,8 | 7,12 | 6,75 | 6,83 | 6,78 | 6,94 | 6,99 | 6,96 (0,31) |
| Si-H B | 7,19 | 6,72 | 6,7 | | | 6,71 | | | 7,02 | 6,87 (0,22) |
| Si-H C | 7,17 | 6,74 | 6,71 | 7,08 | 6,79 | 6,78 | 6,78 | 6,96 | 7,02 | 6,89 (0,17) |
| Si-L A | 6,67 | 6,37 | 6,62 | 6,76 | 6,52 | 6,5 | 6,53 | 6,65 | 6,67 | 6,59 (0,12) |
| Si-L B | 6,68 | 6,38 | 6,59 | | | | | | 6,66 | 6,58 (0,14) |
| Si-L C | 6,68 | 6,38 | 6,45 | 6,75 | 6,51 | 6,51 | 6,53 | 6,62 | 6,67 | 6,57 (0,12) |
| Fe A | 6,35 | 6,13 | 6,23 | 6,45 | 6,26 | 6,25 | 6,28 | 6,41 | 6,44 | 6,31 (0,11) |
| Fe B | 6,38 | 6,12 | 6,23 | | | | | | 6,42 | 6,29 (0,14) |
| Fe C | 6,45 | 6,11 | 6,24 | 6,5 | 6,28 | 6,27 | 6,3 | 6,38 | 6,42 | 6,33 (0,12) |